

· 获奖成果 ·

心律失常离子通道病与药物作用新靶点

戴德哉

(中国药科大学药理学研究室, 南京 210009)

摘要 目的 研究离子通道病的特征及新靶点。方法 人淋巴球的 cDNA, *L*-甲状腺素致心肌肥大, mRNA 表达及膜片钳研究。结果 发现 HERG 及 MINK 基因 3 个突变点, 心肌肥大中通道下调及交感神经亢进与心肌肥大复合模型中部分通道上调, $I_{Ca,L} \uparrow$, $I_{kr} \uparrow$, $I_{ks} \uparrow$, $I_{kl} \uparrow$ 。普萘洛尔等慢性给药消退心肌肥大的间接作用, 使病变通道趋于正常。结论 发现二种离子通道病类型及脂质膜及跨膜信息病变是抗心律失常作用的新靶点。

关键词 抗心律失常药; 离子通道; 心脏病; 脂质膜; LQTS; HERG 基因

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-5048(2002)03-0173-05

1 首次提出诱发严重心律失常的两种离子通道病理论^[1-3]

本研究在国际上首次描述心脏疾病诱发心律失常的离子通道 (ion channelopathies) 病变, 由心肌重构与交感神经系统的兴奋相叠加, 形成离子通道病的特征。

梗死后心脏容易发生严重性心律失常, 易诱发心脏猝死。由于梗死心脏中存在“易损基质”, 非梗死区心肌中缓慢而持久的 SOD 下降, 提示易于遭受氧化应激的攻击。去甲肾上腺素的下降, 提示肾上腺素能受体的功能有改变, 心肌局部递质耗竭状态, 对内源性去甲肾上腺素, 会出现跨膜信息过强反应。本研究阐明梗死心脏中易损基质的生化特点, 1997 年江苏省科技厅组织了鉴定。

随着研究的加深, 发现长期给 *L*-甲状腺素, 使大鼠心肌肥大, 出现很强的致心律失常性^[4], 具有梗死后心脏中“易损基质”的特点, 致心律失常性很强, 以此模型深入研究与心律失常的关系, 可概括为: 易损基质→心肌肥大(心肌形态重构)→脂质膜病变→多离子通道病(心肌电重构)。

1.1 病变心肌中离子通道病累及多通道的特征

心肌重构引起离子通道病, 主要是离子通道的功能下调。

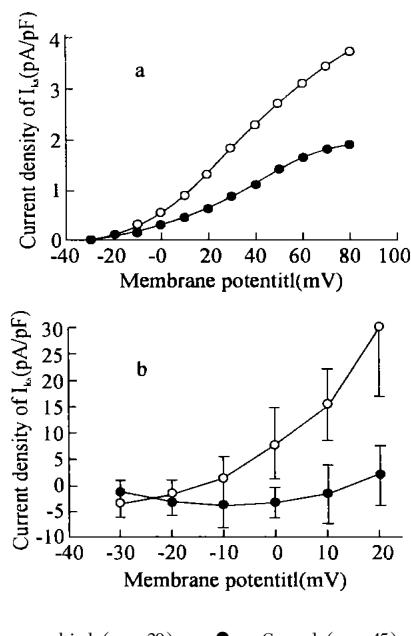
1.1.1 部分离子通道功能下调 测定 I_{lo} 相关基因的 mRNA 表达^[5], *L*-甲状腺素所致病变心肌中 I_{lo} 及 I_{Na} 下调。 I_{Na} 是去极化过程的主要离子流。诸多复极化离子流是电压依赖性, 故而, I_{Na} 的改变亦会影响到复极过程中的 K 离子流下调。

病变肥大心肌中多离子通道下调机理^[1,3]: ①形态学的重构, 心肌肥大增大了心肌质膜的表面积, 离子通道的相对密度减小, 引起电重构现象。②心肌重构造成脂质膜损害, 膜内离子通道构型发生扭曲。影响跨膜的的主要功能区 (domains), 离子通透性下调。膜上离子通道的肽链跨膜形成 6 个袢, $-NH_2$ 端及 $-COOH$ 端均在膜内胞浆中, 跨膜部分组成 S1, S2, S3, S4, S5 及 S6。S4 处为电压敏感区, 感受 I_{Na} 的去极化电压变化。S5 为孔穴区, 离子由此穿越膜孔。S6 与 $-COOH$ 之间, 为核苷酸结合功能区。通道功能区的正常运作需要脂质膜的正常结构, 脂质膜重构改变通道蛋白与脂质膜基质的连接及契合, 继发性改变通道功能区的立体构型及功能。③重构加重, 脂质膜形成斑剥及断裂, 离子通道脱漏及丢失, 终使离子通道数量的绝对值下

降, 电重构现象更明显。主要减少外向钾离子流, 复极过程推迟, APD 延长。

充血性心衰患者的心肌肥大很明显, 心肌重构使复极延迟现象明显。心衰患者的死亡率高, 约 50% 的患者在泵血功能稳定状态下突然死亡, 由突发致死性心律失常所致。ECG 中 QT 延长, 可预测心衰患者心脏猝死的高危险性。延迟复极是心脏病损所引起的, 病变所致 QT 延长在心脏各部位不一致。QT 离散度增加, 是重要的致心律失常机制。

1.1.2 心脏重构病变的基础上又叠加交感神经亢进的离子通道病变 心脏猝死患者在发生前, 70% 患者有心率加快的交感神经亢进的迹象。交感神经亢进的跨膜信息改变和心肌重构的重合, 形成离子通道的复合病变模式, 是构成诱发致死性心律失常的基础。我们在心肌重构离子通道功能下调的基础上, 又观察到 $I_{Ca,L}$ 上调^[6,7], 以及 I_{kr} 、 I_{ks} 、 I_{kl} 上调^[8-10]。 $I_{Ca,L}$ 上调构成 APD/QT 延长的基础。这些离子通道的上调, 是交感神经功能亢进所造成的离子通道病理改变(图 1)。



—○— Hypertrophied ($n=30$) —●— Control ($n=45$)

Fig 1. An exaggerated I_{Ks} in the hypertrophied myocytes by chronic medication of L -thyroxin in guinea pigs. a, Comparison of the I-V curve of the I_{Ks} showing an exaggerated I_{Ks} vs. the normal. b, An exaggerated I_{Ks} in the hypertrophied myocytes by chronic medication of L -thyroxin in guinea pigs. The I-V curves of the I_{Ks} in the normal and hypertrophied myocytes.

1.2 先天性 LQTS 离子通道病变特征^[11,12]

我们在先天性 LQTS (长 QT 综合征) 家属中

QTc >460 ms 的一名患者及正常人群中, 提取淋巴球中 cDNA, 以 SSPC (单链构象多态分析) 法, 对 HERG 基因分析及序列作定量分析。打开了所有 14 个内含因子, 发现有 2 个新突变点。一个突变点是上述 LQTS 家族成员, 在 2184 位一个 bp 突破, 由 C \rightarrow A, 使密码子 667 位酪氨酸 \rightarrow 中止密码 (Tyr \rightarrow STOP)。出现在 S6 与-COOH 之间, 失去了核苷酸结合部位 (492 个氨基酸), 亦影响到 S6 及整个肽链的立体构型, 使 QTc 明显延长 (图 2)。另一例新突变点见于正常人, 在 S1 与-NH₂ 之间, 多插入 9 个 bp (3 个氨基酸)。位于 S1 与-NH₂ 间, 此处不是重要功能区。离子通道功能无异常, QTc 正常。另外在一批正常人群中的淋巴球 cDNA, 还发现一例 HMINK 基因第 149 位 A \rightarrow G 的突变, 使第 38 位丝氨酸 (AGT) \rightarrow 半胱氨酸 (GGT), QTc 正常。

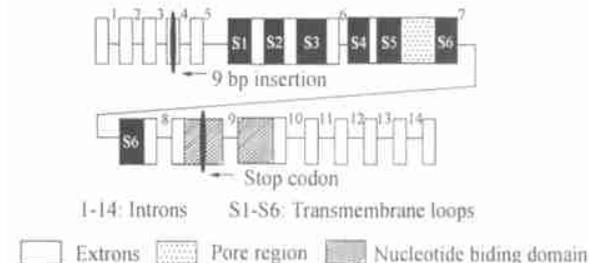


Fig 2. Two novel mutations in HERG gene were discovered. (a), An early appearance of stop codon in LQTS patient who presented a prolonged QTc. (b), An insertion of 9 bp (3 amino acids) and a normal QTc.

先天性 LQTS 离子通道病变大都是钾通道突变。(1) HERG 基因突变, 组装 I_{Ks} 的蛋白变异。(2) KvLQT 及 HMINK 基因突变分别使 I_{Ks} 通道蛋白的变异 (α -及 β 亚单位)。基因突变有高度特异性及选择性, 形成点-点形式的通道蛋白病变。我们发现的 STOP 密码子提前, 使通道蛋白失活, 阻塞通道。

2 抗心律失常药应二相性调控心肌 APD/ERP^[13,14]

2.1 诱发严重致死性室性快速性心律失常的两种基本机制

2.1.1 触发电位机制 心肌 APD 过度延长, 使心肌胞浆中 $[Ca^{2+}]$ 增多。使快速复极过程的早期出现去极化离子流, 出现早后去极 (EAD), 在患者 ECG 中发生 Tdp (尖端扭转性室速), 而后转化为室颤。诱发触发电位 (EAD) 致 Tdp, 会诱发严重后

果, 导致死亡。大多数先天性 LQTS 均诱发 Tdp 而致室颤。后天性心脏病的心肌肥大, 心脏猝死前 ECG 的改变中, 约有 20% 为心搏迟缓, 由心搏过缓致心脏暂时停搏而诱发 Tdp, 随即出现室颤。

2.1.2 折返机制 在心室内壁以射频消融方法, 点状消融打断环行通路, 可使室速瞬时中止, 成功率接近 80%。APD 缩短及冲动折返形成环行通路, 是大多数室速(包括室上性, 房性快速心律失常)的基础。

2.1.3 APD 延长与 APD 缩短共存于病变心脏的心肌中 在病变肥大的心肌中, APD 延长是基本表现。在传导途中, 若前方心肌的 ERP/APD 延长 1 ms, 可阻碍冲动传入, 迫使冲动由 ERP/APD 较短通道返回, 构成折返及形成环行通路的基础。ERP/APD 的长度, 取决于复极过程离子流平衡的总和。影响 ERP/APD 长度的因素: 与内向阳离子流的强度成正比(动作电位的 2 相中: $I_{Ca,L}$ 以及晚期 I_{Na} 离子流); 与外向钾离子流强度(I_{to} , I_{Kr} , I_{ks} 等)成反比。病变心脏中的心肌损害不均一性影响到各处离子流强度有差异, 造成 ERP/APD 各部的相对缩短或延长, 在病变心肌中出现许多可形成冲动折返的环行通路的可能性。病变心肌中 APD 均较长, 具有触发电活动的特性。APD 相对延长和相对缩短心肌的组合, 又构成冲动折返的基础。病变心肌中触发电位机制与冲动折返机制并存。

2.2 药物二相性调整 APD 的理论

APD 缩短是形成折返的基础, 而 APD 过长又是形成 Tdp 的基础, 二者均可能诱发室颤。药物延长病变心肌中 APD, 对消除折返有效, 但不利于 Tdp, 能促使 Tdp 的形成, 而致室颤。缩短 APD 的药物有利于防止 Tdp 出现, 但不利于折返, 反而促使形成折返, 以诱发室性快速性心律失常。因此, 抗心律失常药应该二相性调控病变心肌中 APD, 才能有效地纠正病变对离子流的影响^[15], 有效地缩小心脏各部 QT 离散度, 消除病变心肌中触发电位及折返机制, 从而中止心律失常。

3 抗心律失常药的发展进程^[13, 14]

3.1 抗心律失常药传统作用靶点 直接阻断离子通道

当前, 抗心律失常药主要限于直接对离子通道作用的阻断剂。目前使用的 Vaughan-Williams 分为

四大类, 一直沿用至今, 其中 II 类药 β 阻断剂并不对离子通道有直接的阻断作用, 亦注意到阻断交感神经活性的重要意义。现有直接阻断离子通道的抗心律失常药, 对病变心脏用药后, 会引起诱发心律失常, 甚至死亡。

3.2 钠通道阻断剂 I_c 类药物及选择性钾通道(I_{Kr})阻断剂对抗病变心脏中室性快速性心律失常的临床评价

现有抗心律失常药物对病变心脏的室性快速性心律失常的疗效不佳又有负性效应。国外大型临床试验验证对梗死后患者在一年内改善病死率进行观察。1988 年 CAST 试验, 比较 I_c 类氟卡尼及英卡尼, 病例数 1455 人, 结果给药组的病死率为 7.7%, 而安慰剂组为 3.0%, 提示钠通道阻断剂对梗死后心脏有明显负性效应, 使死亡率提高; 1991 年在意大利西西里岛召开学术会议, 决定放弃钠通道阻断剂, 而集中研究开发 III 类药(钾通道阻断剂); 1994 年 SWORD 试验, 选择了 d-索他洛尔, 对 I_{Kr} 有选择性阻断作用, 又没有 β -阻断作用, 对梗死后患者的临床试验中病例数 3121 人, 观察到 d-索他洛尔组的病死率为 5.0%, 而安慰剂组为 3.1%, 用药组死亡率亦几乎增加一倍, 结果 d-索他洛尔遭到放弃。实验观察, 引起国际学术界对抗心律失常药的疑虑。

钠通道阻断剂中阻断钠通道强的药物, 对病变的心脏均有负性效应, 增加死亡率, 对心脏的毒性主要表现为 A-V 阻滞及诱发心室停搏为主。II 类药选择性地阻断 I_{Kr} 的药物, 如多非替利(Dofetilide)、依波替利(Ibutilide)等, 对心脏毒性主要是引起 Tdp, 而致室颤, 发生率约 3.5%。目前这些药物对房颤及房扑的药效好, 对病变心脏防治严重室性心律失常的结果不能肯定。临床试验有两种结果: ①增加死亡率; ②对死亡率的影响是中性。

3.3 调控多种离子通道的复合型 III 类药^[13, 14]

胺碘酮是老药, 又代表一大批新型复合型 III 类药。由于胺碘酮的临床试验结果对死亡率影响不明显, 呈中性效应, 或轻度改善, 近年来临幊上得到较多肯定。此类药物已组成一类新型药物, 称复合型 II 类药, 不仅阻断 I_{Kr} , 亦阻断其他离子流, I_{ks} 和 $I_{Ca,L}$, 或阻断 I_{Na} , 以及兼有阻断 β -受体、 α -受体的复合作用。此类药物当前有胺碘酮的衍生物 SR33559、Azimilide(阻断 I_{Kr} , 兼阻断 $I_{Ca,L}$ 及 I_{ks})及

CPU-86017 等。Azimilide 及 CPU-86017 可二相性调控 APD。阻断 I_{Kr} (及 I_{ks}), 可延长 APD, 阻断 $I_{Ca,L}$, 使 APD 缩短。

3.4 抗心律失常新药 CPU-86017 对膜上多种通道阻断作用^[17-21, 25]

我们所提出的病变更心肌中存在多种离子通道病变理论, 离子通道的病变不局限于一种通道的改变, 还涉及多种通道。复合型 II类抗心律失常药对多种离子通道的调控具有合理性。

我校药化研究室研制的创新药物 CPU-86017 的抗心律失常活性, 对 I_{Kr} 阻断, 使它具有 II类特性, 可延长 ERP/APD; 同时又阻断 $I_{Ca,L}$ 、 I_{ks} 、 I_{to} , 使它具有复合型特征, 对病变更心肌的 APD 实现二相性调控, 以及兼有 β 阻断作用, 是一个有我国自主知识产权的一类新药。

3.5 苯普地尔葛根素对离子通道的阻断作用

参见文献^[22-24]。

4 首次明确提出心肌脂质膜的基质是抗心律失常药作用的新靶点^[1-3]

4.1 心肌脂质膜基质是诱发心律失常的离子通道病变及药物作用的共同靶点

心脏病引起心肌重构, 导致离子通道的改变, 诱发严重室性心律失常, 主要有二大环节。①脂质膜基质的病变, 使离子通道功能下调。药物纠正脂质膜基质的病变, 可逆转心肌重构, 使离子通道病变向正常方向恢复, 对改善离子通道病药效显著, 而且可避免由于对单一离子通道的抑制作用(钾通道阻断剂、钠通道阻断剂), 避免引起离子通道间不平衡, 而致心律失常性。药物直接作用于离子通道, 有可能使复极过程的离子流之间出现新的不平衡, 难以使复极异常纠正到正常。②阻断交感神经冲动增加致跨膜信息改变, 致心肌重构及离子通道病变(电重构), 如 β 受体激动(以及 α 受体激动), AT_1 受体激动, ET (内皮素)受体激动。药物逆转心肌重构, 改善跨膜信息异常, 改善离子通道病变, 达到预防及中止心律失常的药效。

4.2 作用于脂质膜新靶点的药物

我们提出的新思路优点在于: ①对病变更心肌中离子通道的纠正, 有针对病因的治疗效应, 纠正离子通道病变的根源。心肌重构的逆转, 膜上所累及多种离子通道均会出现改善, 由此研究各类药物作

用的强度, 以及改善离子通道的药效, 寻找相对选择性, 以期发现更新的药物。②作用于脂质膜新靶点的药物, 不会像现有抗心律失常药那样, 形成新的离子流间失衡。此类药物不具有致心律失常性。

1)阻断交感神经冲动及 AT_1 受体阻断剂及内皮素受体拮抗剂, 可改善心肌重构使之逆转, 以及改善由于 cAMP、PKA 增多使部分离子通道核苷酸结合部位的磷酸化增强, 使功能亢进的离子通道下调。

2)抗氧药物以及免疫抑制剂对脂质膜的改变有效, 第一代免疫抑制剂环磷酰胺及氨甲蝶呤, 有逆转心肌重构及抗心律失常作用的药效。

3)我们观察到中药地黄制剂的有效性, 其他中药成分, 包括皂甙、植物多酚、黄酮类、萜类均有一定的疗效。

5 小 结

1)本研究系统地阐明诱发严重室性心律失常的离子通道病变类型的理论, 属原创型。在国内外首次提出心肌重构与交感神经叠加所致的心律失常离子通道病变基本模型。基本特点为: ①. 多离子通道病变; ②. $I_{Ca,L} \uparrow$ 及 $I_{ks} \uparrow$ 、 $I_{Kr} \uparrow$ 与 $I_{to} \uparrow$ 及 $I_{Na} \uparrow$ 并存。

2)药物对 APD 的二相性调控及新型 III类抗心律失常药作用于多离子通道。

3)脂质膜基质及跨膜信息的病变是心肌病变诱发心律失常及药物防治心律失常的关键部位。

参 考 文 献

- [1] Dai DZ. *Pharmaceutical News*, 2001, 8(2): 52-57.
- [2] 戴德哉(Dai DZ). *Act Pharmacol Sin*, 2000, 21(4): 289-295.
- [3] 戴德哉(Dai DZ), 胡慧娟(Hu HJ), 杨平(Yang P)等. 中国病理生理学杂志(*Chin J Pathophysiol*). 2000, 16(10): 945-947.
- [4] 于锋(Yu F), 戴德哉(Dai DZ), 安鲁凡(An IF)等. *Act Pharmacol Sin*, 1997, 18(1): 71-74.
- [5] 曹文(Cao W), 孙胜利(Sun SL), 凌树森(Ling SS)等. 医学研究生学报(*J Med Postgrad*), 2000, 13(4): 213-215.
- [6] 王红兰(Wang HL), 李思本(Li SB), 戴德哉(Dai DZ). 中国药科大学学报(*J China Pharm Univ*), 2000, 31(2): 130-134.
- [7] Dai DZ(戴德哉), Hui-Juan Hu, Dong-Mei Yang, et al. *Clin Exp Pharm Physiol*, 1999, 26: 819-821.
- [8] 张广钦(Zhang GQ), 郝雪梅(Hao XM), 马玉萍(Ma YP)等. 药学学报(*Acta Pharm Sin*), 2001, 36(7): 489-492.
- [9] 张广钦(Zhang GQ), 马玉萍(Ma YP), 郝雪梅(Hao XM)等. 中

- 国药理学通报(*Chin Pharm Bull*), 2001, **17**(2):11-14.
- [10] 张广钦(Zhang GQ), 马玉萍(Ma YP), 郝雪梅(Hao XM)等. 中国药科大学学报(*J China Pharm Univ*), 2000, **31**(6): 451-454.
- [11] 杨平(Yang P), Martin Armstrong, 戴德哉(Dai DZ)等. 遗传(*Hereditas*), 1999, **21**(5): 14-16.
- [12] 杨平(Yang P), Armstrong Martin, 戴德哉(Dai DZ). 中国药科大学学报(*J China Pharm Univ*), 1999, **30**(1): 66-68.
- [13] 戴德哉(Dai DZ). 药学进展(*Prog Pharm Sci*), 1998, **22**(3): 148-152.
- [14] 戴德哉(Dai DZ). 药学进展(*Prog Pharm Sci*), 1997, **21**(4): 200-205.
- [15] Lu HR, Ping Yang, Paul Remeyens, et al. *Eur J Pharmacol*, 1999, **365**: 233-239.
- [16] Hua Rong Lu, 于峰(Yu F), 戴德哉(Dai DZ), et al. *Clin Pharmacol*, 1999, **13**: 445-454.
- [17] Dai DZ, Yu F, Li HT, et al. *Drug Develop Res*, 1996, **39**: 138-146.
- [18] Dai DZ, An LF, Wang YQ, et al. *Drug Develop Res*, 1996, **39**: 184-190.
- [19] 李海涛(Li HT), 王友群(Wang YQ), 戴德哉(Dai DZ)等. *Act Pharmacol Sin*, 2001, **22**(1): 32-36.
- [20] Dai DZ. *Ion Channel Modulators*, 1997, **2**(10): 383-390.
- [21] 马玉萍(Ma YP), 郝雪梅(Hao XM), 张广钦(Zhang GQ)等. 中国药科大学学报(*J China Pharm Univ*), 2000, **31**(2): 121-125.
- [22] 胡慧娟(Hu HJ), 阳冬梅(Yang DM), 戴德哉(Dai DZ)等. *Act Pharmacol Sin*, 1999, **20**(9): 819-823.
- [23] Hu HJ, Yang DM, Lin ZJ, et al. *Brain Res*, 1998, **809**: 149-154.
- [24] 张广钦(Zhang GQ), 郝雪梅(Hao XM), 周培爱(Zhou PA)等. *Act Pharmacol Sin*, 2001, **22**(3): 253-256.
- [25] 李海涛(Li HT), 戴德哉(Dai DZ), 吴才宏(Wu CH)等. 中国药科大学学报(*J China Pharm Univ*), 1998, **29**(1): 57-60.

Ion Channelopathies Which Induces Cardiac Arrhythmias and Novel Target of Drug Development

DAI De-Zai

Research Division of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

ABSTRACT AIM To investigate the pattern of ion channelopathies and the novel target of antiarrhythmic agents.

METHODS The cDNA of lymphocytes from human beings, cardiac hypertrophy by *L*-thyroxin, mRNA expression and patch clamp were conducted. **RESULTS** Three novel mutations in HERG and HMINK gene were discovered. The down regulation of channel in cardiac hypertrophy and up-regulation of some ion channels: $I_{Ca,L} \uparrow$, $I_{Kr} \uparrow$, $I_{Ks} \uparrow$ and $I_{K1} \uparrow$ were found. A relief of channelopathies toward normal can be achieved by an indirect effect to regress the hypertrophied myocardium by chronic medication of propranolol, etc. **CONCLUSION** Two patterns of ion channelopathies were identified and the disorder of the lipid membrane and transmembrane signaling are the new target of antiarrhythmic agents.

KEY WORDS Antiarrhythmic agents; Ion channelopathies; Lipid membrane; LQTS; HERG gene

徐国钧院士、安登魁教授获“中国药学发展奖(学科奖)”

2001年“中国药学发展奖(学科奖)”和“地奥药学科学技术奖(中药奖)”颁奖大会于12月22日在北京举行。我校徐国钧院士荣获“中国药学发展奖(学科奖)”特别贡献奖, 安登魁教授荣获“中国药学发展奖(学科奖)”药物分析奖。“中国药学发展奖(学科奖)”和“地奥药学科学技术奖”都是由中国药学发展基金会设立, 中国药学会和中国药学发展基金会联合组织推荐、评审的奖项。徐国钧院士作为我国生药学特别是粉末生药学的奠基人, 先后完成了380种中药材的粉末显微鉴定, 使我国粉末生药学跃居国际领先地位。获“中国药学发展奖(学科奖)”的有11名专家, 8人获“地奥药学科学技术奖(中药奖)”。